

# **EFICIENCIA DE CUATRO FUNGICIDAS CURASEMILLAS PARA EL CONTROL DE *Pyrenophora teres*, *Bipolaris sorokiniana* EN SEMILLAS DE CEBADA Y *Fusarium spp* EN SEMILLAS DE TRIGO Y CEBADA Y SU EFECTO EN LA GERMINACION.**

## **INTRODUCCION**

Desde el año 1991 se vienen llevando a cabo en el INIA La Estanzuela una serie de ensayos con el objetivo de evaluar la efectividad de distintos productos químicos frente a los diferentes hongos en semillas de trigo y cebada. Estratégicamente es importante para el país que se dispongan nuevos productos fungicidas curasemillas como instrumento fundamental para la reducción en el uso de fitosanitarios foliares (menor costo de producción e impacto ambiental). El experimento surge por iniciativa de la empresa Calister y tiene como objetivo evaluar la eficiencia de control de cuatro fungicidas curasemillas en el control de *Pyrenophora teres*, *Bipolaris sorokiniana* y *Fusarium spp* en semillas de trigo y cebada. Adicionalmente se evalúa la inocuidad de dichos fungicidas en la germinación y vigor de semillas de trigo y cebada. Esta actividad se enmarca dentro de la propuesta interna del Programa Sanitario de Cultivos de Secano que tiene como objetivo la aplicación de prácticas culturales que minimicen el efecto de las enfermedades.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Ubicación**

El experimento fue realizado en INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay, entre los meses de junio a diciembre de 2014.

### **Material Vegetal**

Para determinar la inocuidad de los fungicidas curasemillas en la germinación y vigor de plántulas de trigo y cebada se utilizaron semillas libres de hongos patógenos que afectaran la germinación.

Las determinaciones de eficiencia de control de los curasemillas para manchas en semillas de cebada se realizaron sobre un lote con 77,3% de incidencia de *Pyrenophora teres* y 10,6 % de *B. sorokiniana*. Para *Fusarium* spp. se utilizó un lote de semillas de cebada con 27,5 % de incidencia del patógeno y 63 % de germinación mientras que para trigo el lote presentó 77% de *Fusarium* y 35% de germinación. Finalmente se evaluó la eficiencia de control de los tratamientos para *Alternaria* spp. en semillas de trigo sobre un con 89% de incidencia del hongo.

## Metodología de aplicación

Se trataron 4 repeticiones de 50 gramos de semilla por tratamiento curasemilla. Los productos se aplican vía húmeda (en agua al 1%) mediante un dispositivo con inyección de aire y se homogenizaron durante 10 minutos en un equipo con tambor rotativo a una velocidad de 100 rpm.

## Descripción de los tratamientos

En el siguiente cuadro se presentan los fungicidas y las dosis utilizadas. A los tratamientos solicitados por la empresa INIA adicionó un testigo químico seleccionado por su excelente eficiencia de control de *Pyrenophora* spp. y *Fusarium* spp. (González, 2010) (Cuadro 1)

Cuadro 1. Tratamientos y dosis utilizadas

Concentración P.A g/L	Dosis ml PF./100 kg semilla
Testigo con infección sin tratar	
Testigo químico Carbendazim(250)/Tiram(250)+Iprodione(500)	200+100
Iprodione (250)+Azoxistrobin(50)/Protiocanazole(25)	200+200
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protiocanazole(25)	164+200
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protiocanazole(25)	200+200
Thifluzamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protiocanazole(25)	200+200

P.A. principio activo, PF producto formulado

## VARIABLES ESTUDIADAS

### Evaluación de los curasemillas en la germinación y vigor de plántulas de trigo y cebada

#### Análisis de germinación:

La germinación se realizó bajo normas ISTA (2013), utilizando un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones de 100 semillas para cada tratamiento y condiciones de incubación de 20±2°C durante 8 días. Se evaluó número de plantas normales a los 4 días de comenzada la germinación y

plantas normales, anormales y muertas al final del período de germinación. La comparación de medias se realizó mediante el procedimiento Genmod (SAS, 2003)

#### Vigor

Se evaluó el efecto de los curasemillas en el crecimiento de las plántulas de trigo y cebada. Se utilizó el método de Vigor “ Cold Test” (ISTA, 1995). El mismo consiste en inducir a las semillas a un estrés por baja temperatura (7 días a 7°C) luego de lo cual se colocan a germinar en condiciones ideales (8 días a 20°C). Posteriormente se determinó la longitud y materia seca de parte aérea y radicular de las plántulas normales. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. La comparación de medias se realizó mediante el procedimiento GLM del programa estadístico SAS. Test de Fisher ( $p < 0.05$ )

### **Eficiencia de control de los curasemillas para *P. teres*, *B. sorokiniana* y *Fusarium* spp en semillas de trigo y cebada en condiciones de laboratorio**

Para la determinación de la eficiencia de control de los distintos fungicidas para *P. teres* y *B. sorokiniana* se sembraron 200 semillas por tratamiento en medio de cultivo selectivo para diagnóstico de *Pyrenophora* spp (Reis, 1983). Previamente se realizó la desinfección superficial de las semillas por inmersión en etanol a 95% por 30 segundos y en 1% hipoclorito de sodio por 30 segundos, seguidos de un enjuague en agua destilada estéril (Schilder *et al.*; 1993). El diseño experimental fue de bloques completos al azar espaciados en el tiempo donde dos veces por semana se sembraron dos placas de 50 semillas por tratamiento. Posteriormente las semillas se colocaron en una cámara de cultivo a  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  en ciclos de 12 h de luz NUV (Phillips black light lamp TL 40W/08) y 12 de oscuridad (Neegaard, 1977) durante 10 días. Se determinó la incidencia de *D. teres* y *B. sorokiniana* (%).

Para el caso de *Fusarium* spp. las semillas se sembraron sobre Blotter Test y fueron colocadas en incubadora a 25°C con alternancia de luz oscuridad de 12/12 hs. durante 7 días. Al final del período de incubación se cuantificó el número de semillas con la presencia del patógeno. Adicionalmente se determinó el efecto de los diferentes tratamientos en la germinación. Los análisis de germinación se realizaron según los procedimientos establecidos por las reglas para análisis de semillas (ISTA, 2013)

### **Eficiencia de control de los curasemillas para *Alternaria* spp. en semillas de trigo en condiciones de laboratorio**

Las semillas se sembraron sobre Blotter Test y fueron colocadas en incubadora a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  con alternancia de luz oscuridad de 12/12 hs. durante 7 días. Al final del período de incubación se cuantificó el número de semillas con la presencia del hongo.

## **Eficiencia de control de los curasemillas sobre la transmisión a plántula de *P. teres* en condiciones de campo**

Se determinó la eficiencia de control de 16 tratamientos curasemillas sobre la transmisión a plántula de *Pyrenophora teres* en semillas de cebada en condiciones de campo.

Se utilizó un lote de semillas con 77,3% de incidencia de *P. teres* (previamente utilizado en las determinaciones de laboratorio). El experimento se instaló en un diseño en bloques completos aleatorizados con 6 repeticiones. El tamaño de cada parcela fue de 5m<sup>2</sup> (6 surcos de 5 m largo a una distancia de 0,20 cm) y una densidad de 250 semillas viables /m<sup>2</sup>.

A los 12 y 30 días desde la emergencia se evaluó el número de plántulas enfermas con *D. teres* en dos surcos centrales de cada parcela, los resultados se expresan como incidencia (%). Posteriormente a los 54 días (Z30) y 69 días pos emergencia se registró la severidad (%) de *P. teres*. Todos los tratamientos recibieron la aplicación de fungicida foliar (estrobirulina+triazol+carboxamida) al momento de Z30 (Zadoks *et al.*, 1974) (manejo agronómico recomendado para el control de manchas foliares). A los tratamientos solicitados por la empresa INIA adicionó un testigo químico con y sin aplicación foliar del fungicida al momento de Z30. En base a esta información para cada tratamiento se calcula el área por debajo de la curva del progreso de la mancha en red (AUDPC).

## **Resultados**

### **Evaluación de los curasemillas en la germinación y vigor de plántulas de trigo y cebada**

#### Germinación

Los fungicidas curasemillas no presentaron efecto fitotóxico sobre la germinación de semillas de trigo y cebada (Cuadro 2 y 3)

Cuadro 2. Efecto de los diferentes principios activos en la germinación de semillas de trigo

Concentración P.A g/L	Dosis PF. PF 100 kg	Germinación (%)		
		Plántulas normales	Plántulas anormales	Semillas muertas
Testigo sin tratar		94 a	2 a	4 a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	96 a	1 a	3 a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	96 a	2 a	2 a
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	96 a	1 a	3 a
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	95 a	3 a	2 a

Valores con diferente letra son significativamente diferentes al P=0.05, basado en estadístico de máxima verosimilitud ( $\chi^2$ )

Cuadro 3. Efecto de los diferentes principios activos en la germinación de semillas de cebada

Concentración P.A g/L	Dosis cc. PF 100 kg	Germinación (%)		
		Plántulas normales	Plántulas anormales	Semillas muertas
Testigo sin tratar		76 a	1 a	23 a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	77 a	0 a	23 a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	77 a	0 a	23 a
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	76 a	1 a	24 a
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	76 a	0 a	24 a

Valores con diferente letra son significativamente diferentes al P=0.05, basado en estadístico de máxima verosimilitud ( $\chi^2$ )

## Vigor

No se observó efecto de los curasemillas en la reducción del vigor de semillas de trigo y cebada. Para el caso de trigo, los tratamientos con Boscalid y Clorotalonil incrementaron el peso seco de la parte aérea de las plántulas (Cuadro 4, Fig 1), para cebada no se registró diferencias significativas de los tratamientos con curasemillas en relación al testigo sin tratar para todas las variables estudiadas (Cuadro5)

Cuadro 4. Efecto de las diferentes mezcla de principios activos en el vigor de semillas de trigo

Concentración P.A g/L	Dosis cc./100 kg	Longitud promedio (cm)			Peso seco promedio (mg)		
		PA	PR	PA+PR	PA	PR	PA+PR
Testigo sin curar		10,76 a	14,39a	25,15 a	5,72b	4,71a	10,43a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+ 100	11,57 a	15,52a	27,09 a	5,56b	4,75a	10,31a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	11,48 a	14,86a	26,34 a	6,30a	4,32a	10,62a
Clortalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	10,96 a	15,41a	26,37 a	6,10a	4,78a	10,88a
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	11,40 a	15,02a	26,42 a	5,79b	4,49a	10,18a
CV(%)		10,53	5,06	6,54	1,88	2,78	2,11
MDS		3,04	1,95	4,41	0,28	0,32	0,57

Valores con letras distintas en la misma columna son significativamente diferentes, Fisher ( $P < 0.05$ )

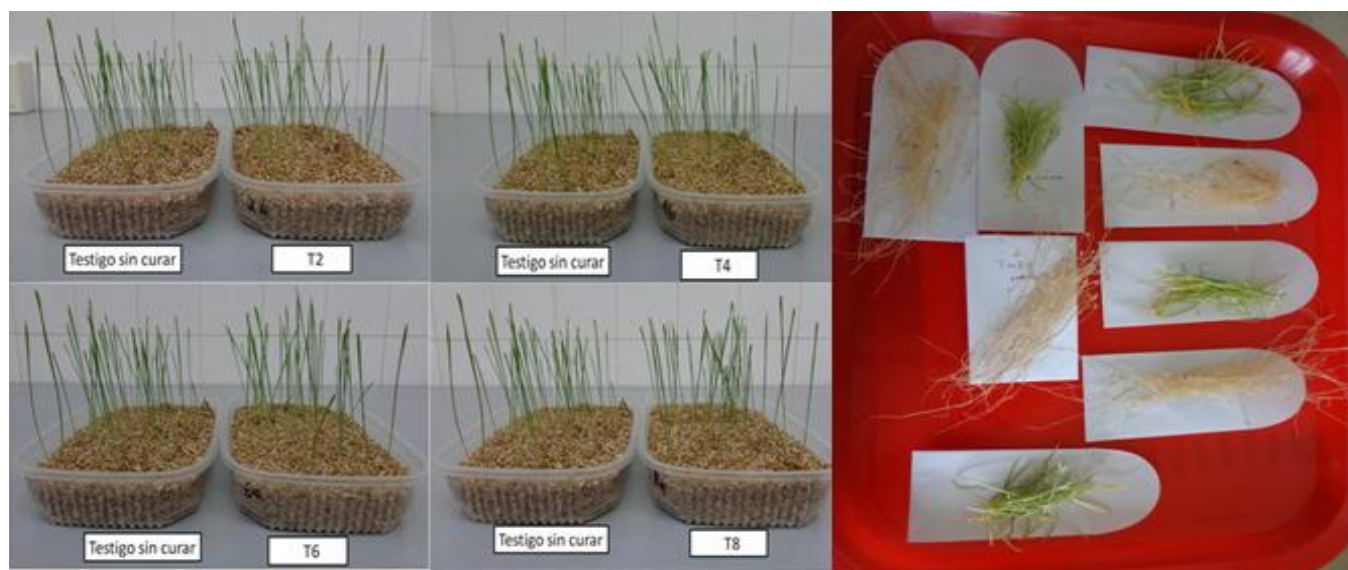


Fig.1 Vigor mediante Cold Test de plántulas de trigo. Tratamientos: Iprodione + Azoxistrobin/Protioconazole (T2), Boscalid + Azoxistrobin/Protioconazole (T4), Clortalonil+ Azoxistrobin/Protioconazole(T6), Thifluxamide+ Azoxistrobin/Protioconazole(T8); a) longitud de plántulas b) determinación de pesos secos de parte aérea y radicular.

Cuadro 5. Efecto de las diferentes mezcla de principios activos en el vigor de semillas de cebada

Concentración P.A g/L	Dosis cc.PF 100 kg	Longitud promedio (cm)			Peso seco promedio (mg)		
		P.A	PR	PA+PR	PA	PR	PA+PR
Testigo sin curar		11,21a	15,3 a	26,51 a	5,94a	7,67a	13,61a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin (50)/Protioconazole(25)	200+200	11,85a	15,99 a	27,84 a	6,64a	7,43a	14,07a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin (50)/Protioconazole(25)	164+200	11,59a	15,32 a	26,53 a	6,39a	7,25a	13,64a
Clortalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	11,25a	14,93 a	26,44 a	6,33a	7,16a	13,49a
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	11,64a	15,3 a	26,94 a	6,43a	7,05a	13,48a
CV(%)		12,8	10,89	10,91	15,33	8,98	11,43
MDS(%)		0,7	0,79	1,39	1,46	0,99	2,35

Valores con letras distintas en la misma columna son significativamente diferentes, Fisher ( $P < 0.05$ )

### Eficiencia de control de los curasemillas en condiciones de laboratorio para *P. teres*, *B. sorokiniana* y *Fusarium spp.*

Todos los fungicidas curasemillas presentaron excelente eficiencia de control ( $>90\%$ ) para *P. teres* y *B. sorokiniana* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Eficiencia de control de los curasemillas en laboratorio para *P.teres* y *B. sorokiniana* de semillas de cebada

Concentración P.A g/L	Dosis cc P.F /100 kg	Incidencia (%)	
		<i>P. teres</i>	<i>B. sorokiniana</i>
Testigo con infección sin tratar		77,3 b	10,6 b
Carbendazim(250)/Tiram (250)+Iprodione (500)	200+100	0 a	1,3a
Iprodione (250)+Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	1,3 a	0 a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	1,0 a	0 a
Clortalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	2,0 a	1,3 a
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	1,0 a	1,6 a

Valores con diferente letra son significativamente diferentes al  $P=0.05$ , basado en estadístico de máxima verosimilitud ( $\chi^2$ )

Los tratamientos con Thifluxamide y carbendazim+tiram+Iprodione fueron los que presentaron mejores eficiencias de control ( $>90\%$ ) de *Fusarium spp.* en semillas de cebada. Observando los valores de respuesta en germinación todos los tratamientos que contenían Azoxistrobin y Protioconazole

incrementaron el valor de germinación en 22 puntos promedio, con respecto al testigo sin fungicida curasemilla mientras que para el testigo químico este incremento fue de 34 puntos (Cuadro 7)

Cuadro 7. Eficiencia de control de los curasemillas en laboratorio para *Fusarium* spp. y su efecto en la germinación de semillas de cebada

Concentración P.A g/L	Dosis cc P.F /100 kg	Incidencia <i>Fusarium</i> spp (%)	Germinación (%)
Testigo con infección sin tratar	-	27,5 e	60 c
Testigo químico carbendazim(250)/Tiram (250)+ Iprodione (500)	200+100	0a	94 a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	11 cd	82 b
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	7 bc	85 b
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	12 d	80 b
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	3 ab	82 b

Valores con diferente letra son significativamente diferentes al P=0.05, basado en estadístico de máxima verosimilitud ( $\chi^2$ )

Para el caso de trigo donde se utilizó un lote con mayor infección del patógeno, en general las mezclas de curasemillas con Protioconazole presentaron reducida eficiencia de control para *Fusarium* spp. con respecto al testigo químico.

Cuadro 7. Eficiencia de control de los curasemillas en laboratorio para *Fusarium* spp. y su efecto en la germinación de semillas de trigo

Concentración P.A g/L	Dosis cc P.F /100 kg	Incidencia <i>Fusarium</i> spp (%)	Germinación (%)
Testigo con infección sin tratar	-	77 D	35 B
Testigo químico carbendazim(250)/Tiram (250)+ Iprodione (500)	200+100	1 A	70 A
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	32 BC	58 C
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	36 C	55 C
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	31 BC	54 C
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	27 B	60 C



### **Eficiencia de control de los curasemillas en condiciones de laboratorio para *Alternaria* spp. en semillas de trigo**

Los tratamientos que contenían Iprodione en su composición, fueron los que presentaron mejor performance en el control de *Alternaria* spp. con eficiencias de control del orden de 98%, para los resto de los tratamientos este valor fue inferior a 50% (Cuadro 9)

Cuadro 9. Eficiencia de control de los curasemillas en laboratorio para *Alternaria* spp. en semillas de trigo

Concentración P.A g/L	Dosis cc P.F /100 kg	Incidencia <i>Alternaria</i> spp (%)
Testigo con infección sin tratar	-	89,3d
Testigo químico Carbendazim(250)/Tiram (250)+ Iprodione (500)	200+100	2,67a
Iprodione (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	1,33a
Boscalid (50)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	164+200	44,0bc
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	32,0b
Thifluxamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	49,3c

### **Eficiencia de control para *P. teres* en condiciones de campo**

Los valores de AUDPC para el progreso de *P. teres* hasta los 69 días post emergencia, muestran que el testigo químico presentó igual cantidad de enfermedad que el testigo sin curasemilla ambos con aplicación foliar de fungicida. El resto de los tratamientos curasemillas con aplicación foliar de fungicida al momento de Z30, presentaron 52% menos de cantidad de enfermedad que los tratamientos antes mencionados (Cuadro 10).

Cuadro 10. Incidencia (%), Severidad (%) y área debajo de la curva para el progreso de *Pyrenophora teres*

Concentración P.A g/L	Dosis PF.ml 100 kg semilla	Incidencia (%)		Severidad (%)		AUDPC1
		Días post emergencia				
		12	30	54*	69	
Testigo con infección	-	7,1 c	65,5 c	17,5 cd	8,2 d	632 b
Testigo químico Carbendazim(250) /tiram (250) + Iprodione (500)	200+100	0,4 a	16,5 b	16,8 cd	8,2 d	614 b
Testigo con infección (Sin AF)	-	7,2 c	64,5 c	18,8 cd	15,2 e	804 a
Testigo químico Carbendazim(250) +tiram (250) + Iprodione (500) (Sin AF)	200+100	0 a	16,5 b	15,3 c	13,3 e	674 ab
Iprodione (250)+ Azoxistrobin (50)/Protioconazole(25)	200+200	0 a	1,7 a	6,2 ab	4,5 ab	254 cde
Boscalid (50)+ Azoxistrobin (50)/Protioconazole(25)	164+200	0 a	1,1 a	7,5 ab	5,0 abc	300 cde
Clorotalonil (250)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	0 a	3,0 a	6,5 ab	4,2 a	257 cde
Thifluzamide(240)+ Azoxistrobin(50)/Protioconazole(25)	200+200	0 a	2,4 a	10,0 b	5,7 abc	381 c

(Sin AF): sin aplicación foliar, <sup>1</sup> Área debajo de la curva de progreso de *P. teres*, Valores con diferente letra son significativamente diferentes al P=0.05, basado en estadístico de máxima verosimilitud ( $\chi^2$ ), correspondiente al análisis conjunto de los 16 tratamientos. \* Zadoks 30.

### Consideraciones finales

- . Las diferentes mezclas Azoxistrobin y Protioconazole pueden ser utilizadas como tratamiento curasemilla en las concentraciones y dosis evaluadas ya que resultaron ser inocuos para la germinación y vigor de semillas de trigo y cebada.
- . Para el control de Fusarium en semillas de cebada dichos tratamientos muestran una menor eficiencia de control que la mezcla ampliamente recomendada de carbendazim, tiram e iprodione.
- . Si el objetivo es controlar *Alternaria* spp. en un lote de semillas de trigo se sugiere la utilización de las mezclas con Iprodione.
- . Los tratamientos que contenían Axozistrobin y protioconazole mostraron excelente eficiencia de control de la transmisión de *D. teres* de semilla a plántula y prolongado tiempo de protección del cultivo a la enfermedad. Esto permite llegar al momento de aplicación foliar (Z30) con 56% menos de cantidad de enfermedad que el testigo sin tratamiento con curasemilla y que el testigo químico. En futuros experimentos

se determinará el impacto de esta disminución en la cantidad de enfermedad en el rendimiento y calidad de granos de cebada.

. Finalmente resultaría importante evaluar estas nuevas moléculas curasemillas en el control de *Drechslera tritici repentis* en semillas de trigo y validar a campo los resultados obtenidos para *B. sorokiniana* en condiciones de laboratorio.

## **Bibliografía**

HAMPTON, J.C; TEKRONY, D.M. 1995. Cold test In: Handbook of Vigor Test method.

ISTA 2013. International Rules for Seed Testing IN: International Seed Testing Association.

GONZALEZ, S. 2010. Patología de semillas de trigo y cebada p. 63-75. IN Manejo de enfermedades en trigo y cebada. Serie Técnica N° 189. INIA Uruguay.

NEEGAARD, P 1977. Seed pathology. 2v. London: Macmillan Press., 1187 p.

REIS, E. M. 1983. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. Plant Disease 67: 68 – 70

SCHILDER, A. M. C.; BERGSTROM, G. C. 1993. Tan spot. pp. 113-120 IN: Seed-borne diseases and seed health testing of wheat. S. B. Mathur and B. M. Cunfer, eds. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, Hellerup, Denmark

Sas Institute. 2003. SAS/STAT user´guide. Version 9.1. SAS Inst.; Cary, NC, USA